

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202491364 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2024.07.23

(22) Дата подачи заявки  
2022.11.17

(51) Int. Cl. *A61K 31/352* (2006.01)  
*A61K 31/7048* (2006.01)  
*A61K 31/727* (2006.01)  
*A61K 45/06* (2006.01)  
*A61P 9/00* (2006.01)

(54) СОСТАВ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНО  
УСТАНОВЛЕННОЙ АССОЦИАЦИИ СУЛОДЕКСИДА И ФЛАВОНОИДОВ  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И  
ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ЕЕ ОСЛОЖНЕНИЙ

(31) 102021000030815

(32) 2021.12.07

(33) IT

(86) PCT/IB2022/061071

(87) WO 2023/105325 2023.06.15

(71) Заявитель:  
ОМИКРОН ИТАЛИЯ С.Р.Л. (IT)

(72) Изобретатель:  
Вирно Кристиано (IT)

(74) Представитель:  
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина  
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,  
Костюшенкова М.Ю., Джермакян Р.В.  
(RU)

(57) Настоящее изобретение относится к композиции для перорального применения, содержащей сулодексид и один или более флавоноидов в качестве активных начал, в лечении сосудистого заболевания, в частности в лечении хронической венозной недостаточности (CVI) и предотвращении ее осложнений.

A1

202491364

202491364

A1

# **СОСТАВ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНО УСТАНОВЛЕННОЙ АССОЦИАЦИИ СУЛОДЕКСИДА И ФЛАВОНОИДОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ЕЕ ОСЛОЖНЕНИЙ**

## **ОПИСАНИЕ**

Настоящее изобретение относится к композиции для перорального применения, содержащей сулодексид и один или более флавоноидов в качестве активных начал, в лечении венозного заболевания, или расстройств, или симптомов, связанных с указанным венозным заболеванием или вызванных им, в частности, в лечении хронической венозной недостаточности (CVI) и/или предотвращении ее осложнений.

## **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Сосудистые заболевания относятся к числу наиболее распространенных заболеваний в мире. Среди них хроническая венозная недостаточность (CVI) нижних конечностей представляет собой одно из заболеваний с большей частотой и распространенностью у женского пола.

CVI представляет собой «нарушение оттока», возникающее вследствие структурных аномалий, затрагивающих стенки вен, дилатационного типа (варикоз) или обструктивного типа, при этом последнее включает, среди различных симптомов, тромбозы глубоких вен (DVT), тромбозы поверхностных вен (SVT) и посттромботические синдромы. Клинические картины CVI весьма разнообразны, и интенсивность и тяжесть заболевания могут быть крайне изменчивы, определяя начало изменений только на эстетическом уровне (например, ретикулярный варикоз, телеангиэктазия) до значительных патологических состояний повреждения тканей (например, липодерматосклероз, трофические язвы).

Ряд факторов, например, предрасполагающие наследственно-конституциональные факторы или провоцирующие факторы, такие как малоподвижный образ жизни, избыточный вес, гормоны и беременность, совместно определяют начало CVI. Такие факторы могут запустить сложный физиопатологический механизм, который через повреждение венозной и/или лимфатической дренажной системы вызывает недостаточность венозной системы, нарушая ее работу как дренирующего органа для обеспечения центростремительного тока крови. Этот феномен может возникнуть из-за аномалий сегментарных клапанных структур (например, посттромботический синдром с разрушением клапанной системы) и после расширения стенок вен (например, варикоз),

что больше не позволяет обеспечить адекватную компетентность клапана.

Из сегментарной клапанной недостаточности могут возникнуть различные первичные синдромы, а также вторичное варикозное расширение вен с недостаточностью кровообращения в глубоких венах (посттромботический синдром). Из возникающей в результате венозной гипертензии, лежащей в основе всех флебо-лимфостатических картин, охватывающих прежде всего области, более вовлеченные гравитационным воздействием (например, перилодыжечную область), может возникнуть интерстициальная имбибиция, а также более общие патологические изменения: от отеков до тромботических и флебитических процессов, до липодерматосклероза и трофических поражений.

CVI характеризуется изменениями в пристеночном напряжении и венозном давлении, которые ответственны за изменение микрососудисто-тканевого гомеостаза с последующим высвобождением медиаторов воспаления и увеличением проницаемости сосудов. В последние годы был достигнут большой прогресс в понимании природы заболевания CVI и изменений на клеточном или ультраструктурном уровне, которые вызывают макроскопические аномалии, обнаруживаемые клинически. В центре патологического процесса обнаруживается воспалительный феномен, который через изменения обычного эндотелиального покрытия венозных стенок (гликокаликса) из-за стаза, *напряжения сдвига*, венозной гипертензии и повышенной вязкости крови, включает в себя, прежде всего, слипание и затем прохождение белых кровяных клеток путем диапедеза в субэндотелиальный слой. Активированные таким образом белые кровяные клетки выделяют ряд «воспалительных» факторов, которые запускают хемотаксический процесс, усиливающий сам флогоз и дополнительное выделение веществ, опосредующих очаговые «вредные» вещества. Такие воспалительные процессы сосуществуют с параллельными гемодинамическими явлениями (рефлюкс, венозная гипертензия, интерстициальная имбибиция) и в конечном итоге синергетически определяют общие клинически значимые последствия с точки зрения симптомов (тяжесть и повышение температуры, припухлость, боль), а также признаков (отек, покраснение, варикозное расширение вен, дермогиподермит, флебит).

Имеющиеся в настоящее время основные стратегии терапевтического лечения CVI после корректного сбора анамнеза и проведения специфической диагностики, включая инструментальный анализ (например, гемодинамическое исследование с цветным доплеровским картированием), предусматривают принятие адекватных стандартов поведения, направленных на обеспечение пациенту лучшего образа жизни. Применение градуированной эластической компрессии с убыванием, особенно в моменты вынужденного малоподвижного образа жизни в повседневной жизни, вместе с

поддерживающей медикаментозной терапией с целью достижения состояния клинической и гемодинамической стабилизации заболевания, несомненно, представляет собой для пациента основную стратегию лечения CVI. Синергетическое взаимодействие между принятием адекватных стандартов поведения, эластической компрессией и медикаментозной терапией позволяет достичь стабильного состояния заболевания, избегая его прогрессирования и развития осложнений. Та же стратегия лечения в более сильнодействующей форме, как правило, предлагается даже на последующей стадии заболевания с целью снижения его интенсивности, ограничения прогрессирования и возникновения осложнений, а также устранения возникшего эстетического дискомфорта.

Медикаментозная терапия CVI развивалась в течение последних десятилетий благодаря ряду экспериментальных и клинических исследований, которые позволили установить механизмы, лежащие в основе заболевания, например, венозную гипертензию, стаз, воспалительные явления, ремоделирование тканей, деградацию матричных белков.

Несмотря на определенный прогресс, достигнутый в понимании механизмов, лежащих в основе возникновения сосудистых заболеваний, таких как CVI, по-прежнему ощущается острая необходимость в выявлении эффективных стратегий терапевтического лечения, позволяющих гарантировать не только лучшее качество жизни и стабилизацию клинической картины пациента, но и лучшую способность предотвращать или ускорять лечение связанных с ними осложнений.

### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Целью настоящего изобретения является обеспечение композиции для перорального применения, в частности, эффективной в лечении сосудистых заболеваний и предотвращении их осложнений. В настоящем изобретении для этой цели предложена композиция для перорального применения, содержащая сулодексид и один или более флавоноидов. Согласно предпочтительному варианту осуществления, композиция по изобретению содержит один или более флавоноидов, выбранных из диосмина, гесперидина, троксерутина, оксерутина, кверцетина и гесперидина.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что конкретная комбинация активных начал сулодексида и одного или более флавоноидов в составе для перорального применения оказывается на удивление более эффективной при лечении сосудистых заболеваний, таких как CVI, и для предотвращения связанных с ними осложнений, чем активные начала по отдельности.

Действие композиции, к которой относится настоящее изобретение, было оценено путем испытаний *in vitro* и *in vivo*, которые фактически продемонстрировали, что эти результаты

являются особенно эффективными при лечении сосудистых заболеваний благодаря синергетическому действию ее компонентов, применяемых в сочетании, в отличие от отдельных активных ингредиентов.

В частности, результаты, полученные авторами изобретения при исследовании CVI на животных моделях, представленные в экспериментальной части настоящего описания (Пример 2), продемонстрировали удивительную способность композиции, к которой относится изобретение, восстанавливать микрососудистые изменения у обработанного животного с более высокой эффективностью, чем композиция, которая была определена для отдельных активных начал, присутствующих в композиции, вводимых по отдельности.

Более того, данные, полученные в ходе испытаний *in vitro* и *in vivo*, проведенных авторами изобретения, и представленные в экспериментальной части настоящего описания, неожиданно продемонстрировали, что, благодаря синергетическому действию между присутствующими в них активными началами, композиции, к которым относится настоящее изобретение, позволяют достигнуть большей эффективности при лечении сосудистых заболеваний, чем активные начала, вводимые по отдельности, даже если отдельные активные начала присутствуют в композиции в более низких дозировках, чем дозировки, применяемые при введении отдельных молекул.

Таким образом, ассоциация сулодексида и одного или более флавоноидов в составе для перорального применения при лечении CVI представляет собой эффективное терапевтическое решение как на ранних стадиях, так и на более тяжелых стадиях заболевания. Преимущественно, применение композиций по настоящему изобретению целесообразно не только на исключительно консервативной стадии заболевания в сочетании с уровнем жизни надлежащего качества и градуированной эластической компрессией, но даже на стадии «агрессивного» управления заболеванием в качестве вспомогательного лекарственного вещества; иными словами, композиции, к которым относится изобретение, имеют огромный потенциал с «консервативной» и «абляционной» точки зрения в лечении варикозных синдромов и в контроле трофических поражений, для лечения которых применение медикаментозной терапии позволяет ускорить время заживления язвы.

Эффективная медикаментозная терапия, такая как предложенная авторами настоящего изобретения, может полностью поддерживать адекватные стандарты поведения и применение градуированной эластической компрессии уже в начале хронической венозной недостаточности (C0s-C3). Как помощь при «прямой» абляционной или консервативной терапии варикозных синдромов и даже на более поздних стадиях,

которые характеризуют хроническую венозную недостаточность (C4-C6), такая медикаментозная терапия может способствовать улучшению качества жизни, стабилизации клинической картины, улучшению прогноза для пациента и существенной помощи в ускорении заживления венозных язв.

Комбинация сулодексида и одного или более флавоноидов, в частности, диосмина в одном пероральном введении позволяет расширить спектр действия и эффективность медикаментозной терапии сосудистых заболеваний и обещает стать *«оптимальной медикаментозной терапией»*, даже с лучшей приверженностью пациента лечению.

Таким образом, настоящее изобретение относится к:

- композиции для перорального применения, содержащей сулодексид и один или более флавоноидов;
- композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления для применения в лечении сосудистых заболеваний и/или для предотвращения осложнений, связанных с ними.

Дополнительные преимущества, а также отличительные признаки и способы применения настоящего изобретения станут очевидными из следующего подробного описания некоторых предпочтительных вариантов осуществления.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1. Влияние различных способов лечения, изложенных в Примере 1, на повышенную проницаемость, вызванную фактором роста эндотелия сосудов (VEGF), монослоя, состоящего из эндотелиальных клеток микрососудов человека (HMVEC).

Фиг. 2. Влияние различных способов лечения, изложенных в Примере 1, на повышенную проницаемость, вызванную VEGF, монослоя, состоящего из эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC).

Фиг. 3. Влияние различных способов лечения, изложенных в Примере 2, на венозное воспаление. Оценка лейкоцитарного роллинга: лейкоциты были помечены родамином 6-G, введенным перед наблюдением внутривенно.

Фиг. 4. Влияние различных способов лечения, изложенных в Примере 2, на функциональную плотность капилляров (подразумевается скорость кровотока в микрососудах, соотношенная с расстоянием, пройденным эритроцитом).

Фиг. 5. Влияние различных способов лечения, изложенных в Примере 2, на веноулярный диаметр, оцененный с помощью интравитальной микроскопии.

Фиг. 6. Влияние различных способов лечения, изложенных в Примере 3, на значение в процентах восстановления максимальной сократимости вен на норадренергическую

стимуляцию в условиях гипертермии (41°C).

## ГЛОССАРИЙ

Термины, применяемые в настоящем описании, являются такими, как они обычно понимаются специалистом в данной области, если не указано иное.

Термин «хроническая венозная недостаточность», сокращенно CVI, в контексте настоящего изобретения имеет значение, обычно применяемое в медицинской практике.

Хроническая венозная недостаточность представляет собой заболевание, характеризующееся прогрессирующим ухудшением функциональности сосудов, особенно нижних конечностей, что в долгосрочной перспективе определяет возникновение боли, отека, воспаления. Такое заболевание характеризуется изменениями пристеночного напряжения и венозного давления, определяющими изменение микрососудисто-тканевого гомеостаза с последующим высвобождением медиаторов воспаления, повышением проницаемости сосудов и снижением тонуса вен.

Для стандартизованного описания клинической картины и симптомов CVI, как правило, применяют систему клинической классификации, обозначаемую аббревиатурой «СЕАР» (Клиническая, Этиологическая, Анатомическая, Патолофизиологическая классификации).

Согласно такой системе, различные стадии заболевания могут быть обозначены следующим образом: С0s: симптомы без признаков заболевания; С1: ретикулярный варикоз и телеангиэктазия; С2: варикозное расширение вен; С3: отек; С4: липодерматосклероз; С5: зажившая язва; С6: язва в активной форме.

Выражение «композиция для перорального применения» в контексте настоящего изобретения относится к композиции для перорального введения субъекту, нуждающемуся в ней, и таким образом она включает композицию по любому из описанных здесь вариантов осуществления в любой форме, известной специалисту в данной области, которая в результате является пригодной для перорального введения.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Как упоминалось выше, настоящее изобретение относится к композиции для перорального применения, содержащей сулодексид и один или более флавоноидов.

Как наглядно показывают результаты исследований, представленные в экспериментальной части настоящего описания (Пример 2 и 3), авторы изобретения обнаружили и продемонстрировали, что композиция, к которой относится настоящая заявка, обладает значительной эффективностью в лечении микрососудистых нарушений, что обусловлено селективностью действия ее активных начал, а также синергией их

комбинации.

Сулодексид представляет собой биологическое лекарственное средство природного происхождения, полученное очисткой из слизистой оболочки кишечника свиньи, состоящее из определенной смеси гликозаминогликанов (GAG), состоящей на 80% из гепарина с низкой молекулярной массой и на оставшиеся 20% из дерматансульфата (DS). Он характеризуется сложным фармакологическим профилем с несколькими видами воздействия на сосудистую систему: антитромботическим, профибринолитическим, прямым противовоспалительным на металлопротеиназы 2 и 9 (ММР-2 и ММ9-9), структурным для реинтеграции гликокаликса и защитным для эндотелия. Сулодексид, применяемый в композиции по настоящему изобретению, может быть получен в соответствии с любой из методик, известных специалисту в данной области, и может присутствовать в композиции даже в форме его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата.

Флавоноиды представляют собой класс химических соединений природного происхождения. Они демонстрируют доказанное прямое действие на интерстициальную соединительную ткань и оказывают выраженное влияние на тонус пристеночной ткани, на проницаемость сосудов и на воспалительный процесс.

Наиболее широко применяемые флавоноиды в основном принадлежат к группе флавонов и производных. Следовательно, в соответствии с предпочтительным аспектом, один или более флавоноидов, применяемые в композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления, представляют собой флавоны или их производные, например, по прямой принадлежности (например, диосмин, флавон) или по косвенной принадлежности в качестве производных (например, гесперидин, восстановленный флавон; троксерутин, гидроксифлавоны).

Флавоноиды, применяемые в композициях, к которым относится настоящее изобретение, даже если каждый из них принадлежит к определенному подсемейству, можно отнести к семейству «флавонов и/или производных».

Химическая структура флавонов включает скелет  $C_{15}$  из атомов углерода, состоящий из двух ароматических колец и одного гетероциклического кольца; одно ароматическое кольцо (кольцо А) конденсировано с гетероциклическим кольцом (кольцом С), и третье (ароматическое кольцо В) присоединено к кольцу С в положении 2.

Флавоны растворимы в воде и этаноле и при растворении в щелочном растворе приобретают характерный желтый цвет.

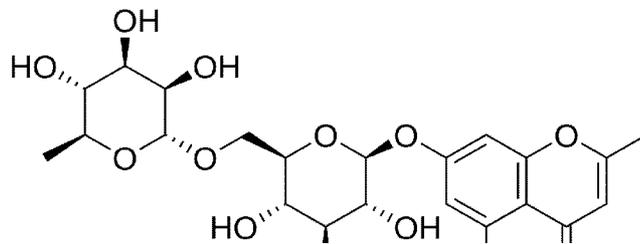
Выражения «производные» или «производное флавоны» в контексте настоящего изобретения относятся к соединениям, принадлежащим к семейству флавоноидов,

характеризующихся или полученных в результате химических модификаций и/или замен основной химической структуры флавонов.

Один или более флавоноидов, применяемых в композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления, могут быть получены из растительного материала, например, растений, с применением любой из методик, известных специалисту в данной области.

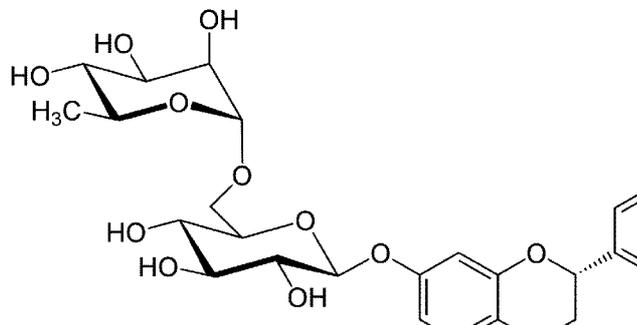
Согласно одному из аспектов настоящего изобретения, указанные один или более флавоноидов предпочтительно выбраны из диосмина, гесперидина, троксерутина, оксерутина, кверцетина и гесперидина, предпочтительно, из диосмина, гесперидина и троксерутина.

Диосмин представляет собой полигидроксилированный флавоон, содержащий восемь гидроксильных групп, две из которых фенольные, повсеместно распространенный в растительном мире, имеющий следующую структуру:

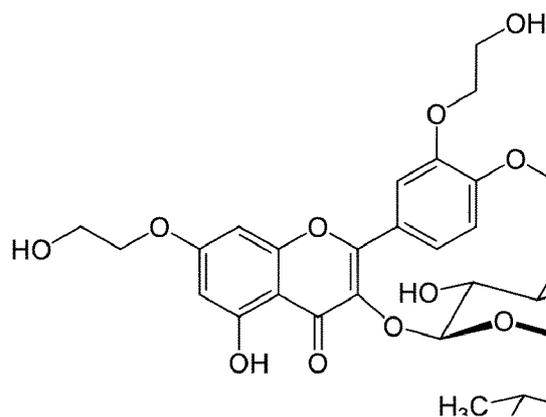


Плоды рода *Citrus* (лимоны, апельсины, грейпфруты и т. д.), листья букко (*Barosma betulina*) и цветущие головки руты (*Ruta graveolens*) содержат значительные концентрации диосмина.

Гесперидин представляет собой производное флавонов, принадлежащее к подсемейству флаванонов или типу флавоноидов, которые встречаются в основном в плодах цитрусовых, характеризуются сильной антиоксидантной, капилляротропной и вазопротекторной активностью и имеют следующую структуру:



Химически троксерутин представляет собой гидроксиэтилрутозид, производное рутина, имеющий следующую структуру:



Такое соединение представляет собой производное флавонола, которое можно выделить из *Sophora japonica*, софоры японской, но оно присутствует даже в чае, кофе, злаках и во многих разновидностях фруктов и овощей.

Диосмин, гесперидин и/или троксерутин, применяемые в любой из описанных здесь композиций, могут быть синтетического или природного происхождения. В композициях по настоящему изобретению также могут применяться растительные экстракты или части растений, содержащие один или более флавоноидов, таких как, например, диосмин, гесперидин и/или троксерутин, например, экстракты растений, содержащих определенное название флавоноидов, предпочтительно выраженные в процентах по массе относительно общей массы экстракта. В предшествующем уровне техники известны растительные экстракты, содержащие один или более флавоноидов, таких как, например, диосмин, гесперидин, троксерутин, оксерутин, кверцетин и/или гесперидин.

Специалист в данной области может корректировать количество сулодексида и одного или более флавоноидов, применяемых при приготовлении композиций по изобретению, в зависимости от потребностей.

Согласно предпочтительному аспекту изобретения, сулодексид присутствует в композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления в количестве, составляющем от 21 мг до 29 мг, предпочтительно равном 25 мг.

Концентрация сулодексида может быть выражена в единицах высвобождения липопропротеинлипазы (или липосемических единиц): такая единица измерения биологической активности сулодексида основана на способности этого активного начала, вводимого внутривенно крысам, высвобождать в кровь осветляющий фактор или  $\beta$ -липидпропротеинлипазу, литический фермент, воздействующий только на триглицериды, связанные с белками. 1 мг сулодексида соответствует 10 ULS. Предпочтительно, сулодексид присутствует в композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления в количестве, равном 250 ULS (липосемических единиц).

Согласно одному из аспектов изобретения, указанные один или более флавоноидов и, в

частности, указанные один или более флавонов и/или их производных присутствуют в композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления в количестве, составляющем от 380 мг до 520 мг, предпочтительно, равном 450 мг.

Авторы изобретения выявили оптимальные дозировки на прием (или на единицу дозированной лекарственной формы) каждого вещества композиции по изобретению для получения синергетических терапевтических эффектов. В частности, наилучшие эффекты достигаются, когда сулодексид присутствует в количестве, равном 25 мг, и указанные один или более флавоноидов присутствуют в количестве, равном 450 мг.

В результате проведенных экспериментов изобретатели обнаружили, что комбинация сулодексида и диосмина в составе для перорального применения оказалась на удивление более эффективной, чем отдельные активные начала, вводимые по отдельности.

Предпочтительный вариант осуществления по изобретению, таким образом, относится, в частности, к композиции для перорального применения, содержащей сулодексид и диосмин. Предпочтительно, эта предпочтительная композиция содержит сулодексид в количестве, равном 25 мг по массе, и диосмин в количестве, равном 450 мг по массе.

Согласно предпочтительному аспекту, композиции по изобретению содержат предварительно установленную ассоциацию сулодексида и одного или более флавоноидов в соответствии с любым из описанных здесь вариантов осуществления. Только в качестве примера, композиции по изобретению могут быть получены, по меньшей мере, путем проведения стадии смешивания сулодексида и одного или более флавоноидов в соответствии с любым из описанных здесь вариантов осуществления с возможностью получения предварительно установленной ассоциации вышеупомянутых активных начал.

Настоящее изобретение также относится к композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления, дополнительно содержащей одно или более подходящих вспомогательных веществ.

Подходящие вспомогательные вещества могут быть выбраны из тех, которые обычно известны в данной области техники, и включают, не ограничиваясь этим: носители (например, соевое масло), разбавители, смазывающие вещества (например, стеарат магния, стеариновая кислота, воски), диспергирующие вещества, поверхностно-активные агенты или сурфактанты (например, лаурилсульфат натрия и полисорбаты), ароматизирующие агенты, адсорбирующие агенты (например, силикагель, тальк, крахмал, бентонит, каолин), вещества, способствующие скольжению и антиадгезионные агенты (например, тальк, коллоидный диоксид кремния, кукурузный крахмал, диоксид кремния), окрашивающие агенты (например, оксиды железа), замутняющие агенты (например, оксид титана), антиоксиданты, связующие вещества (например, камеди, крахмал, желатин,

производные целлюлозы, сахароза, альгинат натрия), дезагрегирующие агенты (крахмал, микрокристаллическая целлюлоза, альгиновая кислота, кросповидон), пластифицирующие агенты или пластификаторы (например, этилцеллюлоза и другие производные целлюлозы, акрилаты и метакрилаты, глицерин и сорбит), консерванты (например, парабены, диоксид серы, этил-п-гидроксибензоат, пропил-п-гидроксибензоат), агенты для повышения вязкости, загустители (например, пчелиный воск), эмульгаторы, увлажняющие агенты, смачивающие агенты, хелатирующие агенты и их смеси.

Согласно предпочтительному аспекту изобретения указанный сулодексид и указанные один или более флавоноидов являются активными началами композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления.

Под термином «активные начала» в контексте настоящего изобретения подразумевается тот факт, что сулодексид и указанный один или более флавоноидов присутствуют в композиции по изобретению в эффективном количестве для получения желаемого терапевтического эффекта у субъекта, подвергаемого терапевтическому лечению, предусматривающему введение вышеуказанной композиции.

Предпочтительный вариант осуществления изобретения, в частности, относится к композиции для перорального применения по любому из описанных здесь вариантов осуществления, где указанный сулодексид и указанный один или более флавоноидов являются единственными активными началами композиции.

Согласно дополнительному аспекту изобретения, однако, композиции по изобретению могут необязательно включать даже одно или более дополнительных активных начал.

Композиции по изобретению могут быть составлены в любой фармацевтически приемлемой форме, известной специалисту в данной области, при условии, что она является подходящей для введения пероральным способом.

Композиции по изобретению могут быть, например, в твердой, жидкой или гелеобразной форме, например, в форме таблетки, твердой капсулы, мягкой капсулы, суспензии, эмульсии, раствора.

Предпочтительный вариант осуществления по настоящему изобретению относится к композиции в форме мягкой капсулы, имеющей качественно-количественный состав, как показано в следующей Таблице 1.

Таблица 1 - Пример композиции по изобретению

<b>Активные начала</b>	
Сулодексид (глюкуронилглюкозамина гликансульфат)	25 мг

Диосмин	450 мг
<b>Вспомогательные вещества</b>	
<i>Заполняющая смесь</i>	
Поверхностно-активное вещество	например, лаурилсульфат натрия
Носитель	например, соевое масло, рафинированное
Загущающий агент	например, пчелиный воск, желтый
<i>Оболочка</i>	
Пластифицирующий агент	например, глицерин
Материал оболочки	например, желатин
Консервирующий агент	например, этил-п-гидроксibenзоат
Консервирующий агент	например, пропил-п-гидроксibenзоат
Замутняющий агент	например, диоксид титана
Окрашивающий агент (один или более)	например, оксид железа

Согласно одному из аспектов по настоящему изобретению, композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления представляют собой фармацевтические композиции.

Как упоминалось ранее, настоящее изобретение также относится к композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления для применения в лечении сосудистых заболеваний и/или для предотвращения осложнений, связанных с этими заболеваниями или вызванных ими, в частности, в лечении хронической венозной недостаточности и/или для предотвращения ее осложнений (включая дисхромии вплоть до венозных язв) и/или симптомов или расстройств, связанных с этим заболеванием или вызванных им (включая посттромботический синдром).

Согласно аспекту по настоящему изобретению, композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления представляют собой композиции для применения в лечении хронической венозной недостаточности ног и/или симптомов или расстройств, связанных с этим заболеванием или вызванных им, и/или для предотвращения осложнений, связанных с этим заболеванием или вызванных им. Термины «симптомы» или «расстройства», связанные с хронической венозной недостаточностью или вызванные ею, в контексте настоящего изобретения также включают осложнения, связанные с этим заболеванием или вытекающие из него, среди симптомов и/или расстройств, как

проиллюстрировано далее в данном документе.

Примеры симптомов, расстройств или осложнений, которые могут быть связаны с сосудистыми заболеваниями и, в частности, с хронической венозной недостаточностью, или вызваны этими заболеваниями, представляют собой: отек, затрудненность движений, чувство жжения, зуд, парестезию или покалывание, боль, мышечные спазмы, чувство набухания, чувство тяжести в нижних конечностях, синдром беспокойных ног, усталость ног, постфлебитический синдром, застойный дерматит и пятнистость, тромботические и флебитические процессы, липодерматосклероз, трофические поражения. Способность композиций по любому из описанных здесь вариантов осуществления лечить симптомы или расстройства, вызванные хронической венозной недостаточностью, как проиллюстрировано в настоящем описании, и/или предотвращать возникновение их осложнений, является результатом синергетического действия активных начал в ассоциации в вышеупомянутых композициях. Фактически, композиции, к которым относится настоящее изобретение, определяя эффективное снижение сосудистой повышенной проницаемости и инфильтрации воспалительными молекулами, а также восстановление венозного тонуса - как это будет однозначно подчеркнуто далее - устраняют или способствуют устранению, фактически, причины или способствующей причины, имеющей отношение к возникновению соответствующих осложнений или симптомов, затем обеспечивая возможность предотвращать и/или лечить такие расстройства или, по меньшей мере, обязательно помогая лечению таких расстройств и/или предотвращению их осложнений.

Лечение или предотвращение осложнений по настоящему изобретению включает, по меньшей мере, стадию введения композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления субъекту, нуждающемуся в этом. Субъектами, подходящими для лечения композицией по настоящему изобретению, в частности, являются субъекты, у которых было диагностировано сосудистое заболевание, или субъекты, у которых был определен высокий риск развития сосудистого заболевания, например, любого из заболеваний, указанных в тексте настоящего описания и/или в формуле изобретения, а также симптомов или расстройств, связанных с ними или вызванных ими.

Настоящее изобретение также относится к композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления для применения в способе лечения сосудистых заболеваний и предотвращения осложнений, связанных с этими заболеваниями или вызванных ими, и, в частности, CVI или симптомов, осложнений или расстройств, связанных с этим заболеванием или вызванных им, при этом способ включает, по меньшей мере, стадию введения пероральным путем указанной композиции субъекту, нуждающемуся в ней.

Дозировка и терапевтический режим композиции по настоящему изобретению могут быть установлены лечащим врачом на основе массы тела, состояния здоровья, пола и возраста субъекта, подлежащего лечению, а также могут быть изменены с течением времени на основе реакции субъекта на терапевтическое воздействие.

Таким образом, дозировка отдельных активных начал в композиции по изобретению может быть скорректирована даже в течение периода приема композиции по изобретению в зависимости от результатов, полученных с течением времени.

Согласно одному из аспектов изобретения, композиция по любому из описанных здесь вариантов осуществления может быть введена субъекту, нуждающемуся в ней, в одной или более дозах, при этом суточная доза составляет от 475 до 950 мг/день.

Предпочтительно, композиции по изобретению будут вводиться субъекту, нуждающемуся в ней, например, по меньшей мере, один раз в день, предпочтительно, два раза в день.

Композиции, к которым относится настоящее изобретение, могут быть получены путем смешивания выбранных активных начал с другими возможными вспомогательными веществами, как это известно специалисту в данной области.

В настоящем документе также описан терапевтический способ лечения сосудистых заболеваний и/или предотвращения осложнений, связанных с ними, в частности, хронического венозного воспаления и симптомов или расстройств, связанных с ним или вызванных им, который включает введение композиции по любому из описанных здесь вариантов осуществления в терапевтически эффективной дозировке субъекту, нуждающемуся в этом.

Введение композиции по изобретению можно повторять несколько раз в день, и композиция может быть предоставлена уже в виде разовых доз или с помощью дозатора разовых доз.

«Терапевтически эффективная доза» означает дозу, которая эффективна в терапии, или количество, достаточное для обеспечения желаемого терапевтического эффекта. Доза, которая эффективна в терапии, представляет собой количество, которое позволяет получить одну или более желаемых биологических активностей во время лечения или предотвращения заболевания. В настоящем случае при лечении сосудистого заболевания и предотвращении его осложнений, в частности, хронического венозного воспаления или симптома или расстройства, связанного с ним или вызванного им. Примерами расстройств или симптомов, связанных с хронической венозной недостаточностью или вызванных ею, являются те, которые уже определены выше в отношении медицинского применения композиции по изобретению.

Ниже приведены примеры, имеющие целью лучше проиллюстрировать способы,

раскрытые в настоящем описании; такие примеры никоим образом не следует рассматривать как ограничение предыдущего описания и последующих пунктов формулы изобретения.

## ПРИМЕРЫ

### **Пример 1. Исследования *in vitro* на клеточных культурах микро- и макрососудов человека**

Прямое действие на проницаемость сосудов трех композиций, содержащих сулодексид + флавоноиды, оценивали *in vitro*:

- (i) сулодексид + диосмин (Sul + Dios);
- (ii) сулодексид + гесперидин (Sul + Esp);
- (iii) сулодексид + троксерутин (Sul + Трох).

Все испытанные композиции (i)-(iii) содержат концентрацию сулодексида, равную 0,25%, и концентрацию диосмина, гесперидина или троксерутина, соответственно, равную 4,5% по массе по отношению к общей массе композиции.

Действие композиций (i)-(iii) сравнивали с действием активных начал диосмина, гесперидина, троксерутина, 8% по массе, и глюкозаминогликана сулодексида, 0,5% по массе, вводимых по отдельности.

Прямое действие на проницаемость сосудов оценивали с применением эндотелиальных клеточных культур, имитирующих непрерывный монослой эндотелия сосудов человека.

Применяли две клеточные модели: эндотелиальные клетки микрососудов человека (HMVEC) для моделирования сосудов микроциркуляции и эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVES) для изучения эндотелия сосудов. Клетки линий HMVEC и HUVES ( $3 \times 10^5$ ) инкубировали в течение 72 часов при 37°C на полупроницаемых мембранах на подложках с порами диаметром 1 мкм, чтобы сформировать непрерывный монослой, полностью непроницаемый для вещества, применяемого в качестве контроля, флуоресцеинизотиоцианата (FITC) - декстрана. Проницаемость сосудов оценивали с помощью набора «*The Millipore® In Vitro Vascular Permeability Assay*».

Монослой обрабатывали в течение 8 часов индуктором проницаемости, фактором роста эндотелия сосудов (VEGF). При концентрации 50 нг/мл VEGF индуцировал увеличение проницаемости на 36% в линии HMVEC и на 42% в клетках HUVES: увеличения, сопоставимые с теми, которые можно выделить в клинической картине CVI. После этого два монослоя инкубировали в течение 8 часов с концентрациями 100 нг/мл: (i) сулодексид + диосмин (Sul + Dios), (ii) сулодексид + гесперидин (Sul + Esp), (iii) сулодексид +

троксерутин (Sul + Trox), (iv) диосмин, (v) гесперидин, (vi) троксерутин и (vii) сулодексид, вводимых по отдельности.

Исследуемая концентрация была выбрана на основе предварительных экспериментов, направленных на исключение возможных воздействий на жизнеспособность и клеточную пролиферативную способность. Затем вводили FITC-декстран. С помощью флуориметра была протестирована эндотелиальная проницаемость, оцененная как концентрация FITC-декстрана, которая превысила барьер, образованный клеточным монослоем.

### Результаты

В конце исследования было отмечено, что:

- обработка VEGF в течение 8 часов вызвала статистически значимое увеличение проницаемости по сравнению с необработанным контролем (Ground) для обеих протестированных клеточных моделей ( $p < 0,0001$ );
- удивительно, что ассоциация сулодексид + флавоноиды (то есть, композиции от (i) до (iii)), даже если она содержала более низкие концентрации активных начал, чем концентрации активных начал, вводимых по отдельности, восстанавливала увеличение проницаемости сосудов, вызванное VEGF, в обеих эндотелиальных моделях ( $p < 0,0001$ ) со статистически значимым различием по отношению к флавоноидам и сулодексиду, вводимым по отдельности ( $p < 0,01$ );
- среди различных протестированных композиций, содержащих сулодексид + флавоноиды, композиция, содержащая сулодексид + диосмин (Sul + Dios), продемонстрировала удивительно большее действие на снижение повышенной проницаемости сосудов по сравнению с действием, оказываемым другими композициями (статистически значимое различие  $p < 0,05$ ; результаты представлены на Фиг. 1 и Фиг. 2);
- сравнение с введением отдельных исследуемых различных молекул выявило синергетический эффект ассоциации сулодексид + диосмин на снижение измененной повышенной проницаемости сосудов. Без привязки к теории, такой результат может быть связан с синергией между механизмом действия сулодексида, таким как восстановление гликокаликса мембраны, снижение повышенной проницаемости сосудов и снижение инфильтрации воспалительных молекул, и механизмом действия диосмина, который посредством ингибирования фермента катехол-о-метилтрансферазы (COMT) увеличивает доступные уровни адреналина и затем его вазоконстрикторный эффект, направленный против отека.

### Пример 2. Исследование *in vivo* на животной модели хронической венозной недостаточности

Методики лечения, описанные в Примере 1, были протестированы в экспериментальном исследовании, проведенном на животной модели хронической венозной недостаточности, что позволило оценить *in vivo* путем перорального введения влияние таких композиций на микрососудистые изменения в зависимости от повышения венозного давления. 18 самцов хомяков (*Mesocricetus auratus*) массой 85-120 г были подвергнуты перевязке вен и распределены в 9 групп, соответственно, подвергшихся лечению пероральным путем с применением композиции на основе:

1. 0,25% сулодексид + 4,5% диосмин (Sul + Dios) в 10% растворе лактозы;
2. 0,25% сулодексид + 4,5% гесперидин (Sul + Esp) в 10% растворе лактозы;
3. 0,25% сулодексид + 4,5% троксерутин (Sul + Trox) в 10% растворе лактозы;
4. 8% диосмин в 10% растворе лактозы;
5. 8% гесперидин в 10% растворе лактозы;
6. 8% троксерутин в 10% растворе лактозы;
7. 0,5% сулодексид в 10% растворе лактозы;
8. 10% раствор лактозы (группа плацебо);
9. здоровый контроль, не подвергался перевязке вен и лечению.

После анестезии путем внутрибрюшинной инъекции (ксилазин 10 мг/кг + кетамин 200 мг/кг) животным делали паховый разрез и затем перевязывали вены с помощью шовных нитей на уровне трети правой наружной подвздошной вены. Такая экспериментальная модель хронической венозной недостаточности вызывает у животного усиление воспалительного процесса в задних конечностях, коррелирующее со значительным усилением взаимодействия лейкоцитов с эндотелием, микроангиопатией и снижением перфузии ткани кровью, снижением функциональной плотности капилляров (FCD), увеличением веноулярного диаметра и нарушением функциональности сосудистых гладкомышечных клеток.

Все исследуемые составы растворяли в 10% растворе лактозы и вводили с помощью перорального зонда объемом 0,2 мл/100 г массы тела и в концентрации 100 мг/кг/день для двух ежедневных введений. Различные виды терапии вводили за 2 недели до и в течение 6 недель после венозной перевязки.

С помощью интравитальной микроскопии в соединении с камерой оценивали микрососудистые изменения, такие как: артериолярный и веноулярный диаметр, функциональная плотность капилляров (с флуоресцеинизотиоцианатом-декстраном - FITC-декстраном), выраженные циркулирующие лейкоциты и роллинг, а также адгезия лейкоцитов к эндотелию с помощью видеозаписей (лейкоцит считался в состоянии «роллинга», если он находился в контакте со стенкой вены и имел более низкую скорость,

чем циркулирующие эритроциты, и считался обладающим адгезивными свойствами, если он был иммобилизован в одном и том же положении в течение, по меньшей мере, 30 секунд).

### Результаты

Результаты подтвердили, что:

- у всех животных, подвергшихся венозной перевязке, наблюдался воспалительный статус, выраженный как количество циркулирующих лейкоцитов, значительно превышающее таковое в контрольной группе, снижение функциональной плотности капилляров (FCD) и увеличение венолярного диаметра ( $p < 0,001$ );
- все протестированные методики лечения характеризовались снижением циркулирующих лейкоцитов; неожиданно, снижение, полученное в группах, получавших композицию, содержащую сулодексид + флавоноиды, оказалось выше, чем снижение, полученное при введении диосмина, гесперидина, троксерутина и сулодексида по отдельности ( $p < 0,001$ ), даже если применялись более низкие концентрации активных начал, чем концентрации активных начал, протестированных по отдельности. Более высокое, хотя и статистически не значимое, снижение было отмечено в группе, получавшей лечение Sul + Dios, по сравнению с уменьшением, полученным при приеме двух других ассоциаций (Фиг. 3);
- неожиданно было обнаружено меньшее снижение FCD в группах, получавших лечение композицией, содержащей сулодексид + флавоноиды, со статистически значимым различием по отношению к группам, получавшим лечение диосмином, гесперидином, троксерутином и сулодексидом, вводимыми по отдельности ( $p < 0,001$ ). Группа, получавшая лечение Sul + Dios, продемонстрировала значительное снижение и предотвращение снижения FCD со статистически значимым различием по отношению к другим ассоциациям сулодексид + флавоноиды ( $p < 0,01$ ) (Фиг. 4);
- венолярный диаметр оказался значительно сниженным в группе, получавшей лечение композицией, содержащей сулодексид + флавоноиды, по сравнению с другими группами, подвергавшимися лечению ( $p < 0,001$ ). В группе, получавшей лечение Sul + Dios, статистически достоверно снизился венолярный диаметр по сравнению со всеми другими группами, подвергавшимися лечению ( $p < 0,01$ ) (Фиг. 5).

Пероральное лечение композицией, содержащей сулодексид + флавоноиды, продемонстрировало эффективность в восстановлении микрососудистых изменений в этой животной модели хронической венозной недостаточности, с более высокой эффективностью по отношению к тем же оцениваемым молекулам, вводимым по отдельности. Более выраженная эффективность неожиданно была обнаружена в группе,

получавшей лечение сулодексидом + диосмином. Такие доказательства подчеркивают синергизм действия лечения сулодексидом + диосмином, подтверждая то, что уже наблюдалось на предыдущей модели *in vitro*.

### **Пример 3. Исследование *ex vivo* на подкожных венах человека**

На основании полученных экспериментальных результатов было проведено исследование на подкожных венах, в котором изучалось прямое влияние на венозный тонус композиции, содержащей сулодексид + флавоноиды, путем оценки влияния на сократительную реакцию на норадреналин композиций, содержащих сулодексид + диосмин (Sul + Dios), сулодексид + гесперидин (Sul + Esp) и сулодексид + троксерутин (Sul + Trox) (все в концентрации, равной 0,25% сулодексида и 4,5% флавоноида, соответственно, выраженной по массе относительно общей массы композиции). Такое влияние было сопоставлено с влиянием активных начал 8% диосмина, гесперидина, троксерутина и 0,5% сулодексида, вводимых по отдельности.

Фрагменты вен собирали у субъектов, страдающих варикозной болезнью, подвергнутых местной анестезии, путем простого надреза варикозной области подкожной вены или коллатеральных вен. Фрагменты выдерживали в течение 24-48 часов в растворе Кребса-Хенселейта при 4°C и pH 7. Венозные кольца длиной 3-4 мм подвергали изометрическому напряжению (напряжение около 1 г); после стадии стабилизации подтверждали реактивность кольца к гиперкалиевой стимуляции [50 мМ в течение около 2 часов]. В условиях постоянной гипертермии (41°C) несколько анализируемых лекарственных средств инкубировали в течение 30 минут при концентрации  $10^{-4}$  М; затем вводили кумулятивные концентрации норадреналина ( $10^{-6}$  М). Для каждого кольца результаты выражали в процентах максимального ответа на норадреналин (агонист), и получали кривые доза/эффект при температуре 41°C.

Статистический анализ результатов показал, что ассоциация сулодексид + флавоноиды восстанавливает венозный тонус при 41°C путем усиления сократительной реакции венозных колец на норадреналин с различием в проценте восстановления, статистически значимым по отношению к различным веществам, вводимым по отдельности ( $p < 0,001$ ), даже если она содержит значительно более низкие концентрации активных начал, чем концентрации тех же активных начал, тестируемых по отдельности. Более того, ассоциация Sul + Dios продемонстрировала большее воздействие на венозный тонус, что удивительно, со статистически значимым различием в проценте восстановления венозного тонуса по отношению к другим ассоциациям ( $p < 0,01$ ). На Фиг. 6 показано подробное изображение полученных результатов.

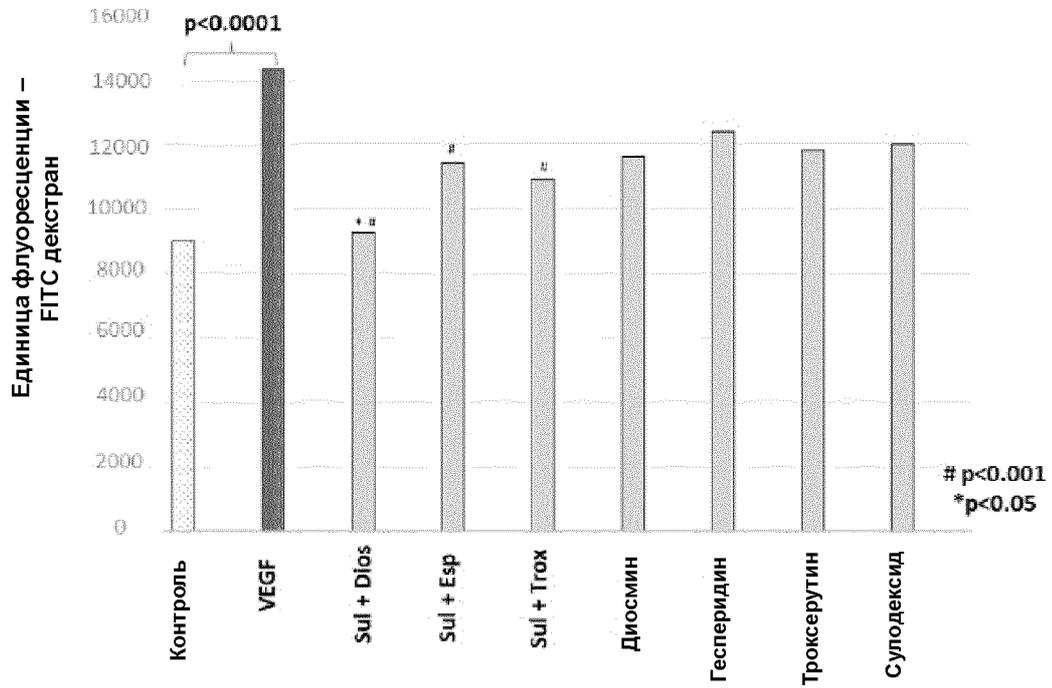
Результаты подтверждают, что ассоциация сулодексида с флавоноидами (диосмином, гесперидином и троксерутином) гарантирует синергетическое действие на венозный тонус. Среди различных протестированных композиций комбинация сулодексид + диосмин продемонстрировала наиболее выраженный эффект: без ограничения какой-либо теорией, можно допустить, что такой результат возникает из синергетического действия двух активных начал сулодексида и диосмина, оба из которых действуют на венозный тонус посредством двух различных механизмов действия. Сулодексид оказывает свое активное действие на вены путем увеличения сократимости сосудов благодаря ингибированию металлопротеиназ 2 и 9, и диосмин оказывает свое флеботоническое действие посредством ингибирования фермента катехол-о-метилтрансферазы и последующего снижения метаболизма норадреналина (NA); таким образом, увеличение концентрации NA на уровне вазоадренергических рецепторов усиливает сосудосуживающий и флеботонический эффект.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция для перорального применения, содержащая сулодексид и один или более флавоноидов.
2. Композиция для перорального применения по п. 1, где указанный один или более флавоноидов представляют собой флавоны или их производные.
3. Композиция по п.п. 1 или 2, где указанный один или более флавонов или их производных выбраны из диосмина, гесперидина, троксерутина, оксерутина, кверцетина и гесперитина.
4. Композиция по любому из п.п. 1 - 3, содержащая сулодексид и диосмин.
5. Композиция по любому из п.п. 1 - 4 в форме таблетки, твердой капсулы, мягкой капсулы, суспензии, эмульсии или раствора.
6. Композиция по любому из п.п. 1 - 5, где указанный сулодексид находится в количестве от 21 до 29 мг, предпочтительно равном 25 мг.
7. Композиция по любому из п.п. 1 - 6, где указанный один или более флавоноидов находятся в количестве от 380 до 520 мг, предпочтительно равном 450 мг.
8. Композиция по любому из п.п. 1 - 7, содержащая растительный экстракт, содержащий указанный один или более флавоноидов.
9. Композиция по любому из п.п. 1 - 8, где указанный сулодексид и указанный один или более флавоноидов представляют собой активные начала композиции.
10. Композиция по любому из п.п. 1 - 9, дополнительно содержащая одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.
11. Композиция по любому из п.п. 1 - 10, для применения в лечении сосудистых заболеваний и/или в предотвращении осложнений, связанных с этими заболеваниями или вызванных ими.
12. Композиция для применения по п. 11, где указанные сосудистые заболевания включают хроническую венозную недостаточность и/или симптомы или расстройства, связанные с хронической венозной недостаточностью или вызванные ею.

## Микроциркуляция

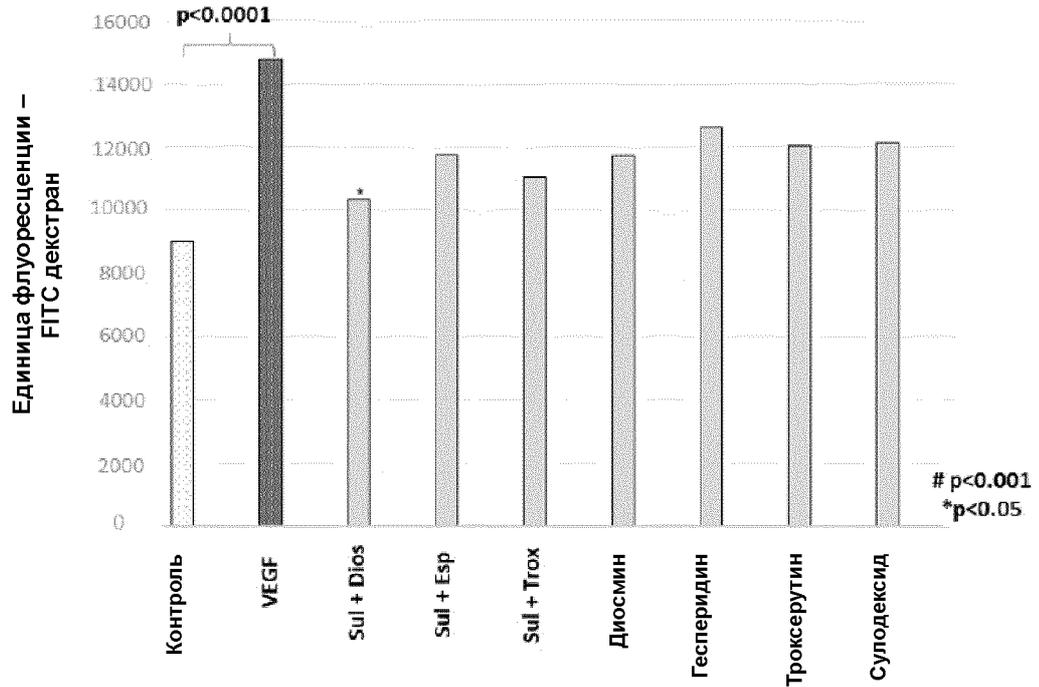
## Влияние различных способов лечения на проницаемость монослоя HMVEC, вызванную VEGF



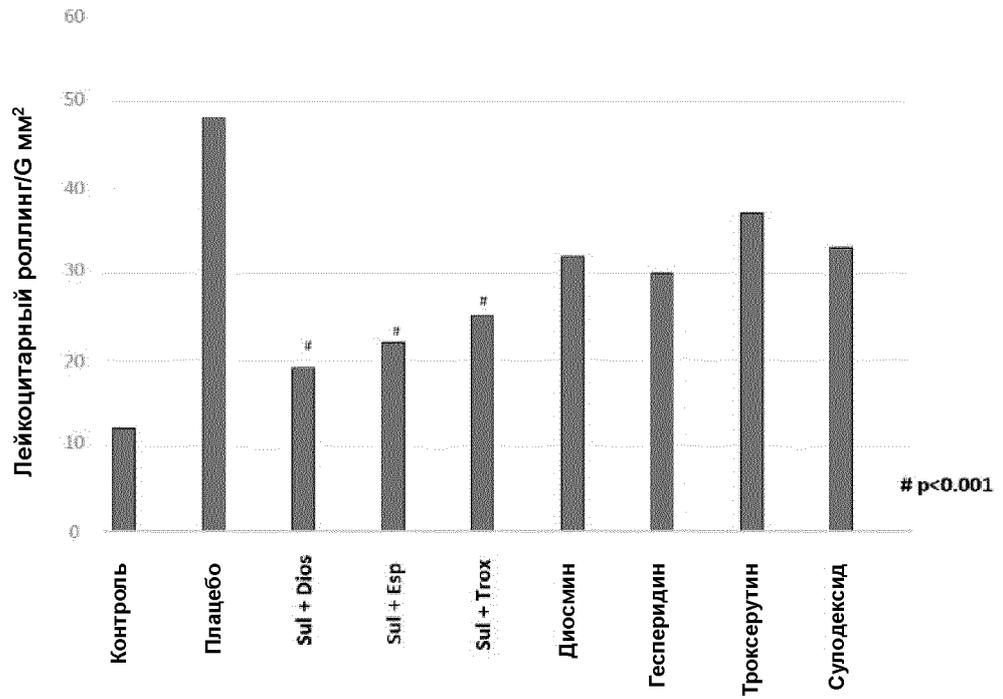
Фиг. 1

## Пупочная вена

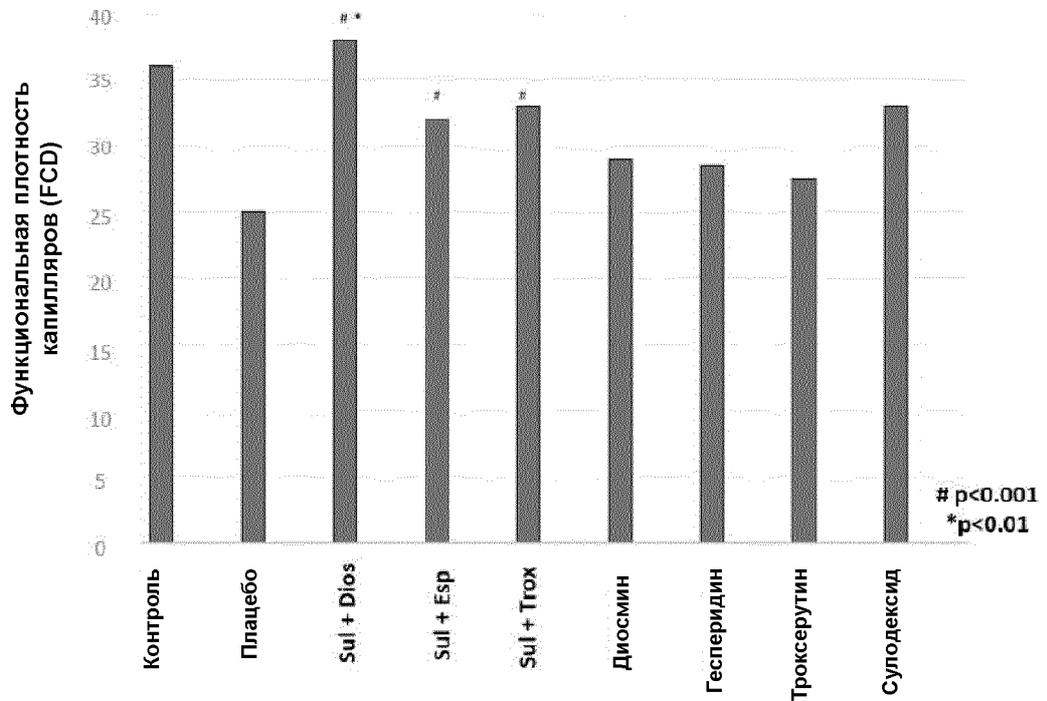
## Влияние различных способов лечения на проницаемость монослоя HUVEC, вызванную VEGF



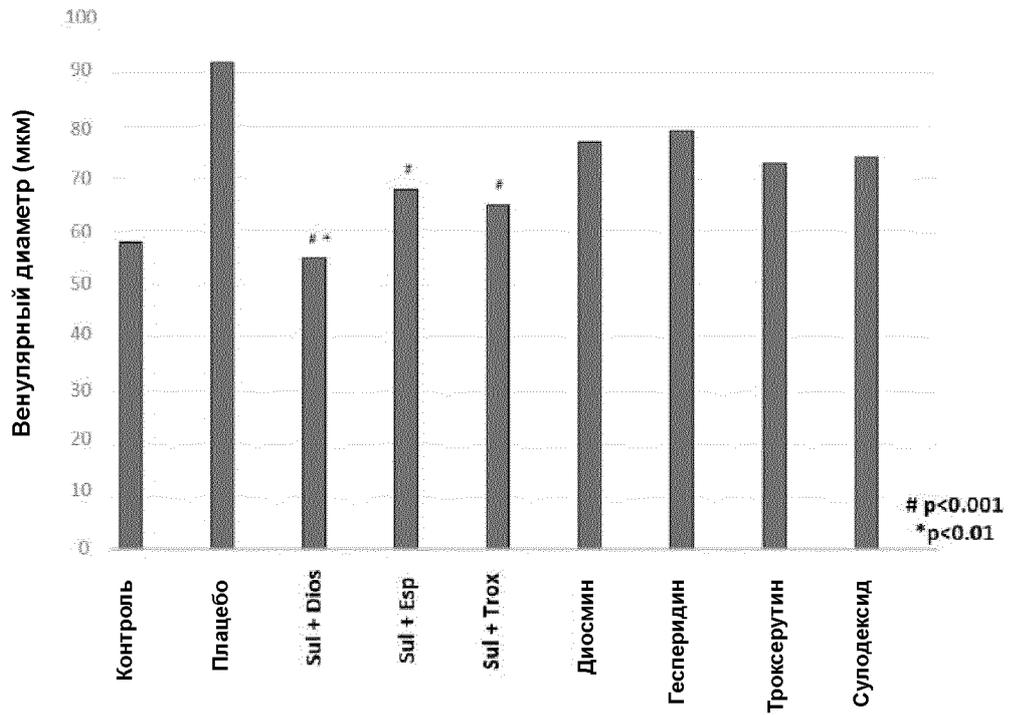
Фиг. 2



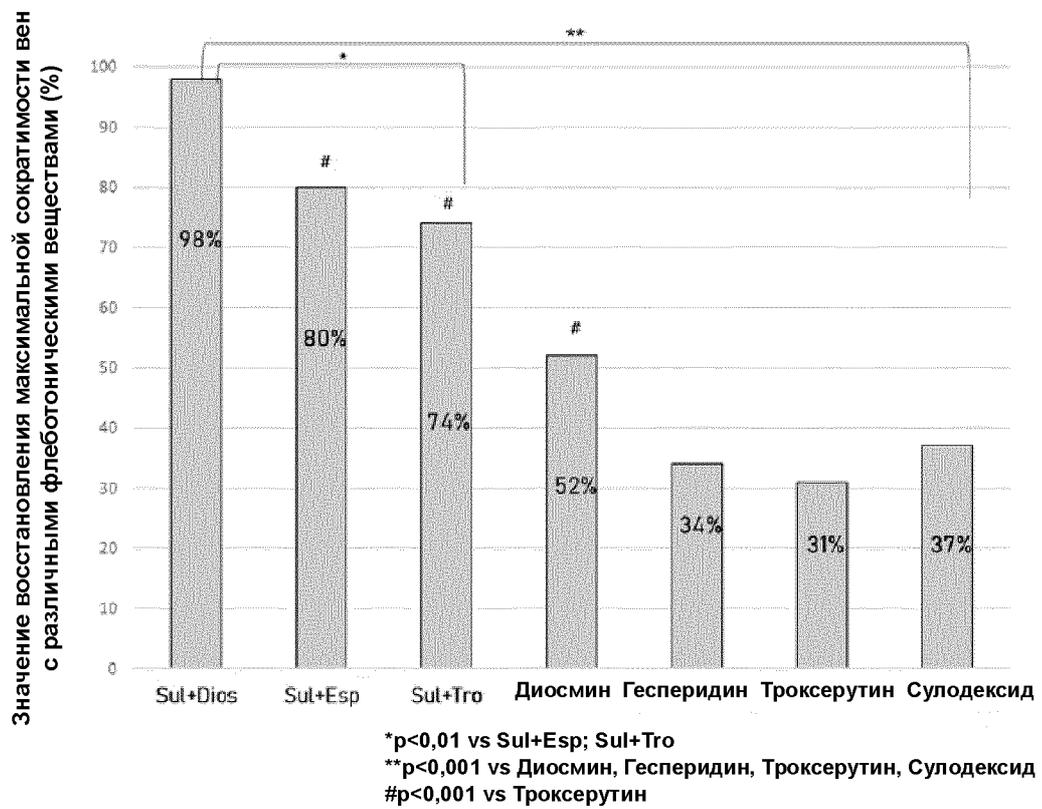
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6